



TITLE:

Differential regulation of protein-tyrosine phosphatases by integrin $\alpha_{IIb}\beta_3$ through cytoskeletal reorganization and tyrosine phosphorylation in human platelets(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Ezumi, Yasuharu

CITATION:

Ezumi, Yasuharu. Differential regulation of protein-tyrosine phosphatases by integrin $\alpha_{IIb}\beta_3$ through cytoskeletal reorganization and tyrosine phosphorylation in human platelets. 京都大学, 1997, 博士(医学)

ISSUE DATE:

1997-03-24

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/202159>

RIGHT:

氏 名	江 角 泰 治
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 1842 号
学位授与の日付	平 成 9 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研 究 科 ・ 専 攻	医 学 研 究 科 内 科 系 専 攻
学 位 論 文 題 目	Differential regulation of protein-tyrosine phosphatases by integrin $\alpha_{IIb}\beta_3$ through cytoskeletal reorganization and tyrosine phosphorylation in human platelets (ヒト血小板における, 細胞骨格再構成とチロシンリン酸化を介した, 蛋白チロシン脱リン酸化酵素のインテグリン $\alpha_{IIb}\beta_3$ による制御機構に関する研究)
論文調査委員	(主 査) 教 授 伊 藤 和 彦 教 授 月 田 承 一 郎 教 授 大 熊 稔

論 文 内 容 の 要 旨

アゴニスト刺激により血小板のフィブリノゲン受容体インテグリン $\alpha_{IIb}\beta_3$ は, 活性化されフィブリノゲンとの結合能を持つようになり, 攪拌条件では血小板どうしを架橋し凝集が起こる。血小板における蛋白チロシンリン酸化の幾つかは, この $\alpha_{IIb}\beta_3$ の活性化依存的に起こることが示されていたが, 我々は, 活性化血小板における蛋白チロシン脱リン酸化の幾つかは, $\alpha_{IIb}\beta_3$ の活性依存的に起こることを報告した。そこで, 本研究では, トロンビン (Th) 刺激血小板における, この $\alpha_{IIb}\beta_3$ 依存的な蛋白チロシン脱リン酸化の制御機構について検討した。

まず, 正常血小板および $\alpha_{IIb}\beta_3$ を欠損する Glanzmann 血小板無力症血小板を Th 刺激した後, 1% Triton X-100 にて溶解し遠心法により, 細胞骨格分画 (CSK), 膜骨格分画 (MSK), 可溶化分画 (SOL) に分離し, 各分画の蛋白チロシンリン酸化をイムノブロット法により検討した。Th 刺激により凝集した正常血小板において, 蛋白チロシンリン酸化および脱リン酸化は, 全細胞溶解物において認められたのとはほぼ同じパターンで CSK において検出された。しかし, 血小板無力症血小板や, 非攪拌条件や RGDS ペプチド処理により凝集を阻害した正常血小板の CSK では, Th 刺激による蛋白チロシンリン酸化は見られたが, 脱リン酸化は認められなかった。蛋白分解酵素カルパインの阻害剤は, これらの蛋白チロシンリン酸化および脱リン酸化に影響を与えなかったが, アクチン重合阻害剤サイトカラシン D は, 蛋白チロシンリン酸化を強く阻害した。この時, 両阻害剤は凝集反応を阻害しなかった。以上より, Th 刺激血小板における $\alpha_{IIb}\beta_3$ 依存的な蛋白チロシン脱リン酸化は, CSK において起こることが示された。

次に, 蛋白チロシンホスファターゼ (PTP1B, PTP1C, SH-PTP2) の, 細胞分画における分布をイムノブロット法により調べた。Th 刺激により, PTP1B および PTP1B の分解産物は, MSK および SOL から CSK に移行した。この移行は, 血小板無力症血小板やサイトカラシン D 処理血小板では認め

られなかった。また、カルパイン阻害剤は、PTP1B の蛋白分解を阻害したが、CSK への移行を阻害しなかった。一方、Th 刺激により、PTP1C は、MSK および SOL より CSK に移行したが、この移行は、血小板無力症血小板やサイトカラシン D 処理血小板では減弱していた。SH-PTP2 は、MSK および SOL に分布し、また、Th 刺激による移行を示さなかった。以上より、PTP1B およびその分解産物は、 $\alpha_{IIb}\beta_3$ およびアクチン重合依存的に CSK へ移行し、PTP1C の CSK への移行は、Th 刺激と $\alpha_{IIb}\beta_3$ の活性化の両方に依存的に起こることが示された。

次に、各蛋白チロシンホスファターゼの、チロシンリン酸化について調べた。Th 刺激により、PTP1C のチロシンリン酸化が認められたが、これは、非攪拌条件、RGDS ペプチド処理、サイトカラシン D 処理した時には認められなかった。さらに、CSK においてのみチロシンリン酸化 PTP1C を認めた。PTP1B と SH-PTP2 は、刺激に関わらずチロシンリン酸化を認めなかった。以上より、 $\alpha_{IIb}\beta_3$ およびアクチン重合依存的にチロシンリン酸化された PTP1C は、CSK においてその基質に作用することが示唆された。

本研究により、インテグリンにより幾つかの蛋白チロシンホスファターゼが異なった仕方で制御され、細胞骨格における蛋白チロシン脱リン酸化に関与していることが明らかとなった。

論文審査の結果の要旨

蛋白チロシンリン酸化反応は細胞内情報伝達機構として重要な役割を果たしているが、本研究では、正常血小板およびインテグリン $\alpha_{IIb}\beta_3$ を欠損する Glanzmann 血小板無力症血小板を用い、トロンビン刺激時のチロシン脱リン酸化反応に対するインテグリン $\alpha_{IIb}\beta_3$ の関与を、特に細胞骨格と蛋白チロシンホスファターゼ PTP1B、PTP1C に注目し検討した。トロンビン刺激正常血小板において蛋白チロシン脱リン酸化は細胞骨格において認められたが、血小板無力症血小板ではこの脱リン酸化が認められずインテグリン $\alpha_{IIb}\beta_3$ 依存的と考えられた。PTP1B はインテグリン $\alpha_{IIb}\beta_3$ およびアクチン重合依存的に細胞骨格に移行したが、PTP1C はインテグリン $\alpha_{IIb}\beta_3$ およびアクチン重合依存的にチロシンリン酸化を受け、さらにトロンビン刺激とインテグリン $\alpha_{IIb}\beta_3$ の両方に依存的に細胞骨格に移行した。

以上の研究は、蛋白チロシン脱リン酸化反応におけるインテグリン $\alpha_{IIb}\beta_3$ の働きをそれを先天的に欠損する血小板無力症血小板を用いて検討した点に特徴があり、インテグリンを介した細胞機能の制御機構の解明に寄与するところ大である。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 8 年 12 月 27 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。